Environmental Protection Series

Reference Method for the Determination of Dibenzofuran and Dibenzo-*p*-dioxin in Defoamers

Reference Method EPS 1/RM/20
August 1991

PRINTED IN CANADA

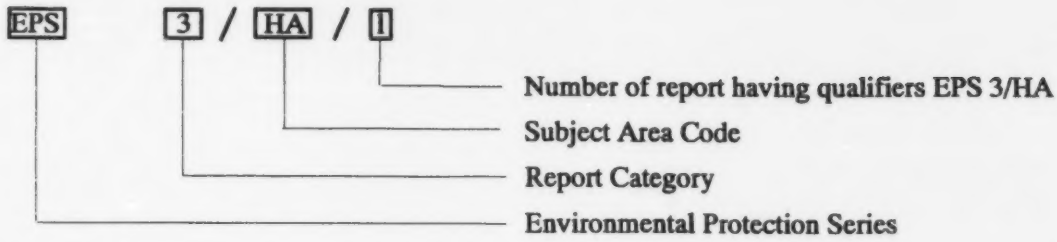
Canada

Environment Canada | Environnement Canada

92-00215/

ENVIRONMENTAL PROTECTION SERIES

Sample Number:



Categories

1 Regulations/Guidelines/Codes of Practice
2 Problem Assessments, and Control Options
3 Research and Technology Development
4 Literature Reviews
5 Surveys
6 Social, Economic and Environmental Impact Assessments
7 Surveillance
8 Policy Proposals & Statements
9 Manuals

Subject Areas

AG Agriculture
AN Anaerobic Technology
AP Airborne Pollutants
AT Aquatic Toxicity
CC Commercial Chemicals
CE Consumers and the Environment
CI Chemical Industries
FA Federal Activities
FP Food Processing
HA Hazardous Wastes
IC Inorganic Chemicals
MA Marine Pollution
MM Mining and Ore Processing
NR Northern and Rural Regions
PF Paper and Fibres
PG Power Generation
PN Petroleum and Natural Gas
RA Refrigeration and Air Conditioning
RM Reference Methods
SF Surface Finishing
SP Oil and Chemical Spills
SRM Standard Reference Methods
TS Transportation Systems
TX Textiles
UP Urban Pollution
WP Wood Protection/Preservation

New subject areas and codes are introduced as they become necessary. A list of EPS reports may be obtained from Environmental Protection Publications, Conservation and Protection, Environment Canada, Ottawa, Ontario, Canada, K1A 0H3

Think Recycling!

Pensez à recycler !

This publication is printed on paper containing recovered waste.

Reference Method for the Determination of Dibenzofuran and Dibenzo-*p*-dioxin in Defoamers

by

C.E. Luthe and R.H. Voss
Pulp and Paper Research Institute of Canada

and

H.B. Lee and T.E. Peart
National Water Research Institute

for the

Chemical Controls Division
Commercial Chemicals Branch
Environmental Protection
Environment Canada

and the

Pulp and Paper Research
Institute of Canada (PAPRICAN)

Reference Method EPS 1/RM/20
August 1991

CANADIAN CATALOGUING IN PUBLICATION DATA

Main entry under title:

Reference method for the determination of dibenzofuran and dibenzo-p-dioxin in defoamers

(Reference method ; EPS 1/RM/20)
Text in English and French with French text on inverted pages.
Title on added t.p.: Méthode de référence pour le dosage du dibenzofurane et de la dibenzo-p-dioxine dans les antimousses.
Includes bibliographical references.
ISBN 0-662-58518-6
DSS cat. no. En49-24/1-20

1. Wood-pulp industry -- Waste disposal.
2. Wood-pulp -- Bleaching. 3. Antifoaming agents. I. Luthe, Corinne Elizabeth, 1953-
II. Canada. Commercial Chemicals Branch.
III. Pulp and Paper Research Institute of Canada.
IV. Canada. Environment Canada. V. Series: Report (Canada. Environment Canada) ; EPS 1/RM/20.

TD899.W65R43 1991 676'.042 C91-098691-6E

On the cover:

The Weyerhaeuser Canada Ltd. bleached kraft pulp mill in Kamloops, British Columbia, with the Thompson River in the background and the effluent treatment lagoons in the foreground. (Photo by Mark Hewitt, University of Waterloo)

©Minister of Supply and Services Canada 1991
Cat. No. En 49-24/1-20
ISBN 0-662-58518-6

Reader's Comments

Inquiries pertaining to the use of this reference method should be directed to:

Serge Langdeau
Commercial Chemicals Branch
Conservation and Protection
Environment Canada
Ottawa, Ontario
K1A 0H3

Additional copies of this document can be obtained from:

Environmental Protection
Publications
Technology Development Branch
Conservation and Protection
Environment Canada
Ottawa, Ontario
K1A 0H3

Foreword

The use of defoamers contaminated with non-chlorinated dibenzofuran (DBF) and dibenzo-p-dioxin (DBD) in chlorine bleaching pulp mills has been shown to significantly increase the 2378-TCDF and 2378-TCDD levels of the final bleached pulp. To reduce amounts of these toxicants in pulp mill discharges, Environment Canada is developing regulations that will establish the maximum concentrations of DBF and DBD in defoamers for those applications.

This report is an analytical method for the determination of DBF and DBD in defoamers at low (ng/g) levels. It will be referenced in the regulations and has been developed jointly by the Pulp and Paper Research Institute of Canada (PAPRICAN) and Environment Canada.

In this method, defoamers are steam-extracted and the extract in iso-octane is cleaned up on a basic alumina column. Final analysis is performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in the selected ion-monitoring mode and the extraction recoveries of native DBD and DBF are monitored by using DBF-d_8 and DBD-d_8 as surrogates. Confirmation of DBD and DBF was done by comparing the ratio of peak areas for the quantitation and confirmation ions of each compound in the standard and the sample. Based on a 5.00 g sample and a final volume of 0.5 mL, the method detection limit is 1 ng/g for both DBF and DBD.

Table of Contents

Foreword v
List of Figures viii

Section 1
General Information 1
1.1 Scope and Application 1
1.2 Principle and Theory 1
1.3 Interferences 1
1.4 Sample Storage 1

Section 2
Apparatus and Reagents 2
2.1 Apparatus 2
2.2 Reagents 2

Section 3
Procedures 5
3.1 Extraction 5
3.2 Cleanup 5
3.3 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis 6
3.4 Confirmation of Identity 7

Section 4
Calculations 8

Section 5
Quality Control and Method Performance 10
5.1 Quality Control 10
5.2 Method Performance 10

Bibliography 11

List of Figures

1 **Steam Distillation Head** 3

2 **Typical Chromatogram** 7

General Information

1.1 Scope and Application

This method applies to the determination of non-chlorinated dibenzo-*p*-dioxin (DBD) and dibenzofuran (DBF) in defoamers at ng/g levels.

1.2 Principle and Theory

The defoamer is steam-extracted into iso-octane and the extract is cleaned up by column chromatography. The concentrated extract is analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) in the selected ion-monitoring (SIM) mode.

1.3 Interferences

Other volatile and semi-volatile organics present in the sample and not removed by the column cleanup step may interfere. Combining a high resolution capillary column and a selective detector, such as a GC-MS operating in SIM mode, is usually sufficient to remove these interferences. Compound identity is confirmed by comparing the ratio of peak areas of the quantitation ion and the confirmation ion in the sample to an authentic standard.

1.4 Sample Storage

No stability data are available for DBD and DBF in defoamers. Defoamers are currently stored at room temperature until analysis. To avoid contamination, glass bottles with foil- or Teflon-lined caps should be used to store defoamers.

Apparatus and Reagents

2.1 Apparatus

The following is a list of apparatus needed to carry out this procedure. Note that all glassware must be washed and dried, using the same procedure as that used for trace organic analysis.

a. Volumetric flasks - 10, 50 and 100 mL.

b. Steam distillation heads (see Figure 1 for construction and dimensions).

c. Round-bottom flasks - 500 and 250 mL.

d. Graduated centrifuge tubes - 15 mL with standard tapered glass stoppers or Teflon-lined screw caps.

e. Chromatographic columns - 400 × 10 mm (id) with Teflon stopcocks.

f. Three-stage Snyder columns - about 30 cm long.

g. Heating mantles with temperature controls.

h. Drying oven for glassware.

i. Oven for activating alumina at 130 °C.

j. A GC-MS with good sensitivity operating in selected ion-monitoring mode. As an example, a HP5880A GC interfaced to a HP5970B Mass Selective Detector and a data system were used. Other equally or more sensitive systems may be used.

k. Fused silica capillary column - 30 m × 0.25 mm (id) coated with 5% diphenyl, 94% dimethyl, and 1% vinyl polysiloxane phases, 0.25 µm film thickness.

l. Hamilton syringes - 10, 50, 100, 250 and 500 µL.

2.2 Reagents

The following reagents are used in this procedure. Note that all organic solvents must be of distilled-in-glass grade with blanks suitable for residue analysis.

a. Iso-octane.

b. Petroleum ether (P.E., b.p. 30 to 60°C).

c. Dichloromethane.

d. Alumina - basic, 100 to 200 mesh, Brockman Activity I, activated at 130°C overnight and kept in a tightly sealed bottle placed inside a desiccator until use. Reactivate adsorbent once every two weeks.

e. Anhydrous sodium sulphate previously heated at 600°C overnight.

f. Reagent water - defined as water in which an interferent is not observed at the method detection limit of the parameters of interest. For example, a sample was used that was prepared by passing distilled water through a 4-cartridge purification unit.

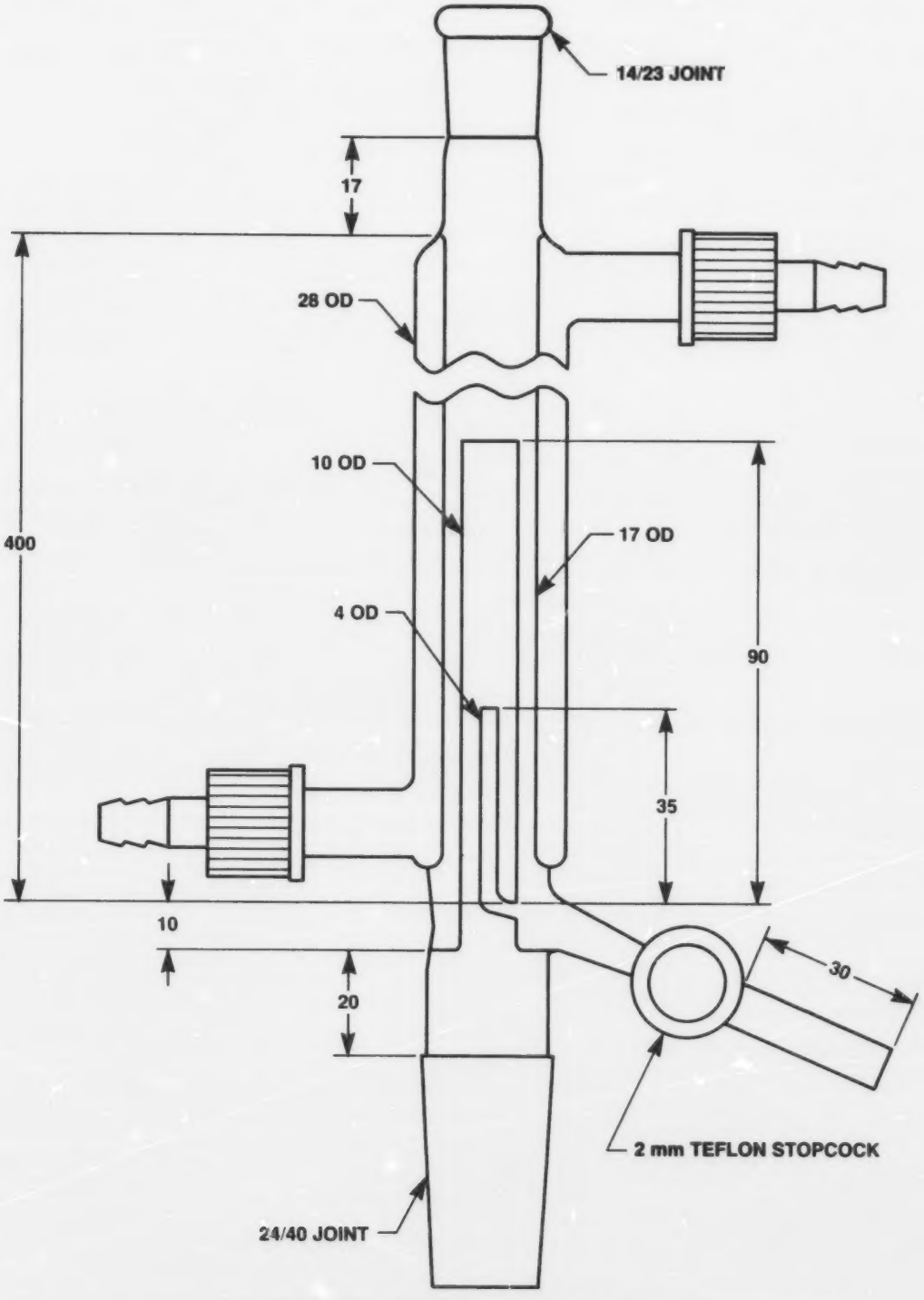


Figure 1 Steam Distillation Head

g. Dibenzofuran - 99+%.

h. Dibenzo-*p*-dioxin - 98+%.

i. Dibenzofuran-d_8 and dibenzo-*p*-dioxin-d_8 - 99.0 atom % D.*

j. Hexamethylbenzene - 99%.

k. Boiling chips - anti-bumping granules of fused alumina. Teflon boiling stones can also be used.

---

* When available, ^{13}C-labelled DBF and DBD surrogates can be used instead of the deuterated surrogates.

Section 3

Procedures

3.1 Extraction

The following are steps in the extraction procedure.

a. Shake sample well just before a subsample is taken for analysis.*

b. To 5.00 g defoamer sample in a 500 mL round-bottom flask, add 50 µL of a mixture of DBD-d_8 and DBF-d_8, internal standard surrogates of 5 ng/µL each in iso-octane, 200 mL of reagent water, and boiling chips.**

c. Place the flask into a heating mantle and attach a steam distillation condenser.

d. Add 3 mL of water and 2 mL of iso-octane inside the condenser.

e. Once a steady flow of cooling water is passing through the condenser, adjust the heater control of the mantle to bring the suspension to a vigorous boiling without bumping for 3 hours.

f. At the end of the extraction, let the condenser cool down to room temperature. Carefully drain off as much water as possible before draining the organic extract from the condenser into a 15 mL centrifuge tube.

g. Using a Pasteur pipet, transfer the organic extract into a second centrifuge tube containing a small amount of anhydrous sodium sulphate, while retaining the water in the first tube.

h. Rinse the condenser and the first tube twice with 2 mL aliquots of petroleum ether (P.E.) and transfer the rinsings to the second tube again.

i. Evaporate the combined extract down to 2 mL using a gentle stream of nitrogen and a water bath of 45°C.

3.2 Cleanup

The following are steps in the cleanup procedure.

a. Plug a 400 × 10 mm (id) glass column with a piece of glass wool. Add 1 cm of granular anhydrous sodium sulphate to the bottom.

b. Fill the column with 5.00 g of activated basic alumina and then add 1 cm of anhydrous sodium sulphate to the top.

c. Elute the column with 20 mL of P.E. and discard this fraction.

---

* Since some defoamers are supplied in the form of a suspension, the sample should be homogenized by shaking to ensure a representative subsample is taken for analysis. A larger sample (i.e., 5 g instead of 1 g or less) also helps to minimize this potential inhomogeneity problem.

** In order to obtain quantitative recovery of DBD and DBF by steam distillation, about 100 boiling chips (0.6 to 0.7 g) were added to the water/defoamer sample to achieve vigorous boiling without bumping.

d. Quantitatively transfer the sample extract obtained in step i. (subsection 3.1) to the column, elute the column with 50 mL of P.E., and discard this fraction as well.

e. Continue the elution with 50 mL of 8% (v/v) dichloromethane in P.E. and collect this fraction in a 250 mL round-bottom flask as it contains all the native and deuterated DBD and DBF.

f. Evaporate the solvent down to about 5 mL with a three-stage Snyder column and a heating mantle.*

g. After cooling, transfer the extract to a 15 mL centrifuge tube and add 1 mL of iso-octane. Rinse the Snyder column and the flask with 2 × 2 mL of P.E. and combine the rinses in the above tube.

h. Using a gentle stream of nitrogen and a 45°C water bath, evaporate the solvent down to just below 0.5 mL.

i. After cooling, add 10 µL of a 25 ng/µL solution of hexamethylbenzene recovery standard in iso-octane, and adjust volume to 0.5 mL before GC-MS analysis.

3.3 Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Analysis

a. The following is an example of the GC-MS operating conditions for analyzing DBD and DBF.

Instrument:	HP5880A GC, HP5970B MSD and data system
Column:	30 m x 0.25 mm, 0.25 µm film thickness
Carrier gas:	Helium with a head pressure of 69 kPa(10 psi), linear velocity 32 cm/s
Injection:	2 µL splitless (valve time 0.75 min)
Injector temperature:	250°C
Oven program:	70°C for 0.75 min then programmed to 140°C at 30°C/min, followed immediately by a 2°C/min temperature increase to 180°C. At the end of the run, bake the column at 280°C for 15 min.**
Ionization:	Electron impact (70 eV)
Source temperature:	200°C
Dwell time:	100 ms (milliseconds)
EM voltage:	200 V above autotune value
Ions monitored:	m/z 147[a] for hexamethylbenzene m/z 168[a] and 139[b] for DBF m/z 176[a] for DBF-d_8 m/z 184[a] and 155[b] for DBD m/z 192[a] for DBD-d_8
where:	[a] = quantitation ion [b] = confirmation ion

b. Prepare a series of standards in iso-octane that cover the expected concentration range of DBD and DBF in the sample extracts. Each solution must also contain DBD-d_8, DBF-d_8 and

---

* Other techniques can be used for evaporating solutions containing DBD and DBF. The analyst must demonstrate, however, that losses of these compounds and their surrogates are negligible in the evaporative steps.

** To avoid interference by the high boiling co-extractives in the GC-MS analysis, the capillary column must be baked at 280°C for 15 minutes before injecting the next defoamer extract.

hexamethylbenzene at a concentration of 500 pg/μL.

c. To maximize sensitivity, divide the ions into three groups or retention time windows. Monitor m/z 147 (hexamethylbenzene) in group 1; m/z 139, 168 (DBF) and 176 (DBF-d_8) in group 2; and m/z 155, 184 (DBD), and 192 (DBD-d_8) in group 3.

d. Inject 2 μL of the standard. Analyze the standard by GC-MS in the selected ion-monitoring (SIM) mode using the masses given in step c. A typical chromatogram is depicted in Figure 2 and the order of elution is: hexamethylbenzene, DBF-d_8, DBF, DBD-d_8, and DBD.

e. Analyze the samples in the same way as the standards.*

3.4 Confirmation of Identity

a. Integrate the reconstructed ion chromatograms for the quantitation ions (m/z 168 for DBF and m/z 184 for DBD) and confirmation ions (m/z 139 for DBF and m/z 155 for DBD) in the sample. If the ratio of peak areas for the quantitation and confirmation ions at the expected retention time in the sample is within ± 20% of that of an authentic standard, then the presence of the parameter is confirmed.

b. To confirm DBD and DBF concentrations of ≤10 ng/g in samples, further evaporate the final extract to 100 μL or less.

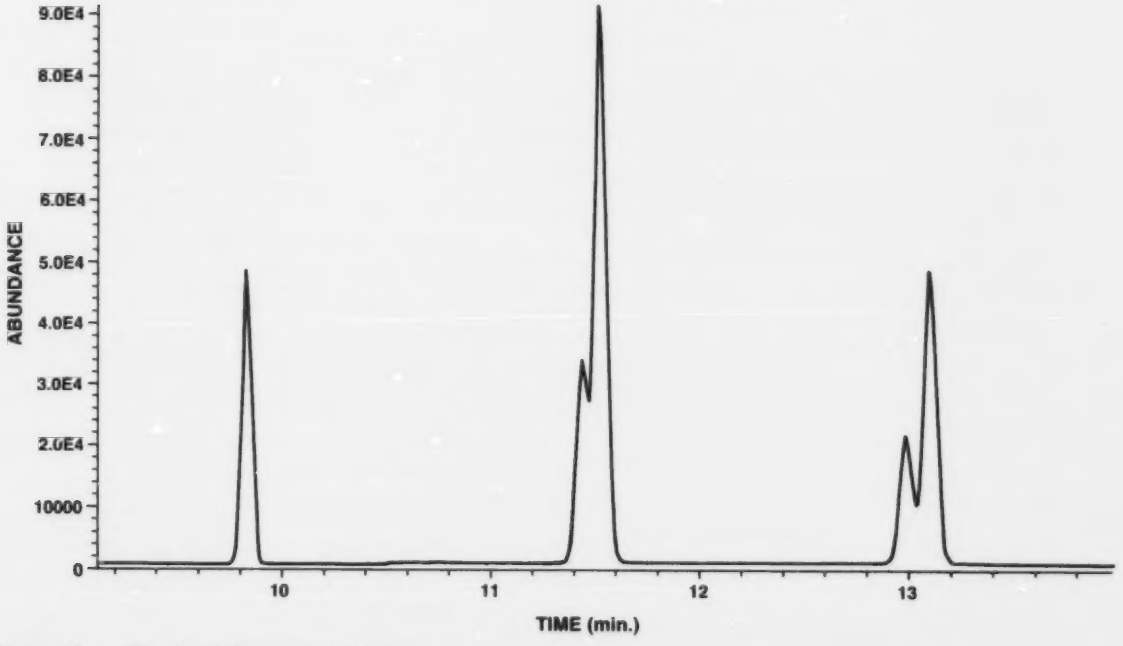


Figure 2 Typical Chromatogram

* If excessive interference is experienced in analyzing sample extracts, the use of a GC-MS system operating at a resolution of 5000 or higher is recommended. In this case, the ions monitored are: 147.1174 for HMB; 168.0575 and 139. 0548 for DBF; 176.1077 for DBF-d_8; 184.0524 and 155.0497 for DBD; and 192.1026 for DBD-d_8.

Section 4

Calculations

a. From the integrated ion chromatograms for the calibration runs, calculate the relative response factors for the native DBD and DBF relative to the corresponding perdeuterated DBD and DBF internal standards (=RRF_x) according to the following equation:

$$RRF_x = (A_{ix}/A_x)(C_x/C_{ix})$$

where:

A_{ix} = peak area of the quantitation ion for the appropriate labelled internal standard (m/z 176 for DBF-d_8 and m/z 192 for DBD-d_8)

A_x = peak area of the quantitation ion for the native analyte "x" (m/z 168 for DBF and m/z 184 for DBD)

C_x = concentration of native analyte "x", pg/µL

C_{ix} = concentration of appropriate internal standard "x", pg/µL

b. If the RRF for DBD and DBF are constant (relative standard deviation <10%) over the working range, it can be assumed that the RRF is invariant and the average RRF can be used. Alternatively, the results can be used to plot a calibration curve of response ratios, A_{ix}/A_x vs RRF.

c. Calculate the concentration of the native DBD and DBF in the sample, C_{sx}, as follows:

$$C_{sx} = (RRF_x)(A_x/A_{ix})(Q_{ix}/W)$$

where:

C_{sx} = concentration of native parameter "x" in the sample, ng/g

RRF_x=response factor of native parameter "x" relative to its perdeuterated internal standard

A_x = peak area of the quantitation ion for native parameter "x" in the sample (m/z 168 for DBF and m/z 184 for DBD)

A_{ix} = peak area of the quantitation ion for appropriate labelled internal standard "x" in the sample (m/z 176 for DBF-d_8 and m/z 192 for DBD-d_8)

Q_{ix} = amount in ng (i.e., 250 ng) of the appropriate labelled internal standard "x" added to the sample before extraction

W = weight of defoamer sample in grams

d. Calculate the percent recovery of the perdeuterated internal standards, % R_{ix}, measured in the sample extract using the formula:

$$\% R_{ix} = [(A_{ix}/A_r)_{sample}][(A_r/A_{ix})_{standard}](100)$$

where:

A_r = peak area of the quantitation ion (m/z 147) for

hexamethylbenzene recovery standard

A_{ix} = peak area of the quantitation ion for the appropriate labelled internal standard "x" (m/z 176 for DBF-d_8 and m/z 192 for DBD-d_8)

Section 5

Quality Control and Method Performance

5.1 Quality Control

a. The acceptable range of surrogate recovery is from 50 to 120% for surrogate level of 50 ng/g. If the recovery of the surrogates is outside this range, the sample should be repeated and/or the entire analytical technique should be reviewed.

b. Method blanks should be run frequently to correct for background contamination.

5.2 Method Performance

a. Based on a 5.00 g sample and a final volume of 0.5 mL, the method detection limit (MDL) for both DBD and DBF is 1 ng/g. It was obtained by replicate analysis of spiked defoamer samples in a single laboratory. The MDL actually achieved in a given analysis will vary depending on instrument sensitivity and sample matrix effects.

b. The method has been tested for linearity of spike recovery from defoamers and has been demonstrated to be applicable over the concentration range from 1 to 100 ng/g.

c. In a single laboratory, six replicate determinations of DBF and DBD in a defoamer sample spiked at 10 ng/g level gave a mean recovery and a coefficient of variation of 103% and 8.9% respectively for DBF, and 106% and 5.9% respectively for DBD.

Bibliography

Kuehl, D.W., and R.C. Dougherty, *Environ. Sci. Technol. 14*(4), 447-449 (1980).

Voss, R.H., C.E. Luthe, B.I. Fleming, R.M. Berry, and L.H. Allen, "Some New Insights into the Origins of Dioxins Formed During Chemical Pulp Bleaching", *Pulp Pap. Can. 89*(12):151-162 (1988).

Série de la Protection de l'environnement

Méthode de référence pour le dosage du dibenzofurane et de la dibenzo-*p*-dioxine dans les antimousses

Méthode de référence SPE 1/RM/20
Août 1991

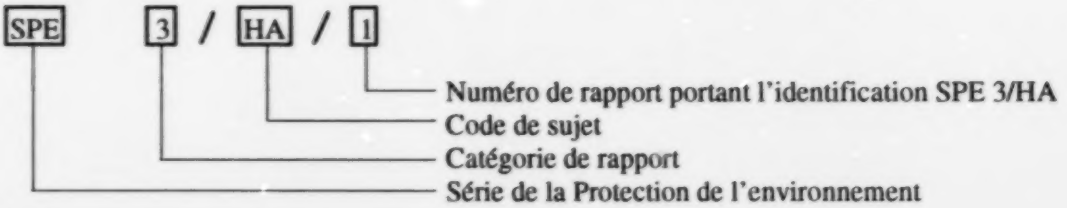
IMPRIMÉ AU CANADA

Canada

Environnement Canada Environment Canada

SÉRIE DE LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT

Exemple de numérotation :


SPE
3 / HA / 1
Numéro de rapport portant l'identification SPE 3/HA
Code de sujet
Catégorie de rapport
Série de la Protection de l'environnement

Catégories

1 Règlements/Lignes directrices/ Codes de pratiques
2 Évaluation des problèmes et options de contrôle
3 Recherche et développement technologique
4 Revues de la documentation
5 Inventaires, examens et enquêtes
6 Évaluations des impacts sociaux, économiques et environnementaux
7 Surveillance
8 Propositions, analyses et énoncés de principes généraux
9 Guides

Sujets

AG Agriculture
AN Technologie anaérobie
AP Polluants atmosphériques
AT Toxicité aquatique
CC Produits chimiques commerciaux
CE Consommateurs et environnement
CI Industries chimiques
FA Activités fédérales
FP Traitement des aliments
HA Déchets dangereux
IC Chimie inorganique
MA Pollution marine
MM Exploitation minière et traitement des minéraux
NR Régions du Nord et rurales
PF Papier et fibres
PG Production d'électricité
PN Pétrole et gaz naturel
RA Réfrigération et climatisation
RM Méthodes de référence
SF Traitements de surface
SP Déversements de pétrole et de produits chimiques
SRM Méthodes de référence normalisées
TS Systèmes de transport
TX Textiles
UP Pollution urbaine
WP Protection/préservation du bois

Des sujets et des codes additionnels sont ajoutés au besoin. On peut obtenir une liste des publications de la SPE en s'adressant aux Publications de la Protection de l'environnement, Conservation et Protection, Environnement Canada, Ottawa (Ontario) K1A 0H3.

Think Recycling!

Cette publication est imprimée sur du papier contenant des rebuts recyclés.

Pensez à recycler !

Méthode de référence pour le dosage du dibenzofurane et de la dibenzo-*p*-dioxine dans les antimousses

par

C.E. Luthe et R.H. Ross
Institut canadien de recherches sur les pâtes et papiers

et

H.B. Lee et T.E. Peart
Institut national de recherche sur les eaux

pour

la Division du contrôle des produits chimiques
Direction des produits chimiques commerciaux
Protection de l'environnement
Environnement Canada

et pour

l'Institut canadien de recherches sur les pâtes et papiers

Méthode de référence SPE 1/RM/20
Août 1991

DONNÉES DE CATALOGAGE AVANT PUBLICATION (CANADA)

Vedette principale au titre:

Méthode de référence pour le dosage du dibenzofurane
et de la dibenzo-p-dioxine dans les antimousses

(Méthode de référence : SPE 1/RM/20)
Texte en français et en anglais disposé tête-bêche.
Titre de la p. de t. addit.: Reference method for the
determination of dibenzofuran and dibenzo-p-dioxin
in defoamers.
Comprend des références bibliographiques.
ISBN 0-662-58518-6
N° de cat. MAS En49-24/1-20

1. Pâte à papier -- Industrie -- Déchets --
Élimination. 2. Pâte à papier -- Blanchiment.
3. Antimousses. I. Luthe, Corinne Elizabeth, 1953-
II. Canada. Direction des produits chimiques commerciaux.
III. Institut canadien de recherches sur les pâtes et
papiers. IV. Canada. Environment Canada. V. Coll.:
Rapport (Canada. Environnement Canada) ; SPE 1/RM/20.

TD899.W65R43 1991 676'.042 C91-098691-6F

Sur la couverture :

Photographie aérienne de l'usine de pâte kraft blanchie de la compagnie Weyerhaeuser Canada Ltd. à Kamloops (Colombie-Britannique), avec la rivière Thompson à l'arrière-plan et les lagunes de traitement des effluents au premier plan. (Photographie de Mark Hewitt, de l'Université de Waterloo)

©Ministre des Approvisionnements et Services Canada 1991
N° de cat. En 49-24/1-20
ISBN 0-662-58518-6

Commentaires

Pour formuler des commentaires ou obtenir des renseignements sur l'utilisation de la présente méthode de référence, s'adresser à :

Serge Langdeau
Direction des produits chimiques commerciaux
Conservation et Protection
Environnement Canada
Ottawa (Ontario)
K1A 0H3

Pour obtenir d'autres exemplaires du présent document, s'adresser à :

Publications de la Protection de l'environnement
Direction du développement technologique
Conservation et Protection
Environnement Canada
Ottawa (Ontario)
K1A 0H3

Avant-propos

Il est démontré que l'utilisation d'antimousses contaminés par du dibenzofurane (DBF) ou de la dibenzo-p-dioxine (DBD) non chlorés dans les usines de pâte blanchie au chlore augmente considérablement la teneur du produit final en 2,3,7,8-TCDF et en 2,3,7,8-TCDD. Afin de réduire les quantités de ces substances toxiques dans les rejets des usines de pâte, Environnement Canada élabore un règlement qui fixera les concentrations maximales de DBF et de DBD admissibles dans les antimousses destinés à ces usines.

Le présent document expose une méthode d'analyse pour le dosage du DBF et de la DBD dans les antimousses, à des concentrations peu élevées (de l'ordre du nanogramme par gramme). Il fera l'objet d'un renvoi dans le règlement et il a été rédigé conjointement par l'Institut canadien de recherches sur les pâtes et papiers et par Environnement Canada.

Selon cette méthode, l'antimousse est extrait à la vapeur et l'extrait, dans de l'isooctane, est purifié sur une colonne d'alumine basique. L'analyse finale est exécutée par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM) en mode de détection d'ions spécifiques, et on mesure la récupération par extraction du DBF et de la DBD naturels en utilisant comme analogues du DBF-d_8 et de la DBD-d_8. On confirme l'identité du DBF et de la DBD en comparant le rapport des aires des pics pour l'ion de mesure et l'ion de confirmation de chaque composé dans l'étalon et dans l'échantillon. Avec un échantillon de 5,00 g et un volume final de 0,5 mL, la limite de détection de la méthode est de 1 ng/g pour le DBF et la DBD.

Table des matières

Avant-propos v
Liste des figures viii

Section 1
Renseignement généraux 1
1.1 Portée et application 1
1.2 Principe et théorie 1
1.3 Interférences 1
1.4 Stockage des échantilllons 1

Section 2
Appareillage et réactifs 2
2.1 Appareillage 2
2.2 Réactifs 2

Section 3
Mode opératoire 5
3.1 Extraction 5
3.2 Purification 5
3.3 Analyse par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM) 6
3.4 Confirmation de l'identité 8

Section 4
Calculs 9

Section 5
Contrôle de la qualité et rendement de la méthode 11
5.1 Contrôle de la qualité 11
5.2 Rendement de la méthode 11

Bibliographie 12

Liste des figures

1 Tête de colonne de distillation à la vapeur 3

2 Chromatogramme typique 7

Renseignements généraux

1.1 Portée et application

La présente méthode s'applique au dosage du dibenzofurane (DBF) et de la dibenzo-*p*-dioxine (DBD) non chlorés dans les antimousses, à des concentrations de l'ordre du nanogramme par gramme.

1.2 Principe et théorie

L'antimousse est extrait à la vapeur dans de l'isooctane et l'extrait est purifié par chromatographie sur colonne. L'extrait concentré est analysé par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM) en mode de détection d'ions spécifiques.

1.3 Interférences

D'autres substances organiques volatiles ou semi-volatiles présentes dans l'échantillon, qui n'auraient pas été éliminées par la purification sur colonne, peuvent causer des interférences. L'utilisation d'une colonne capillaire à haute résolution et d'un mode de détection sélectif comme la CG-SM en mode de détection d'ions spécifiques suffit généralement à éliminer ces interférences. On confirme l'identité de chaque composé en comparant le rapport des aires des pics pour l'ion de mesure et l'ion de confirmation dans l'échantillon et dans un étalon certifié.

1.4 Stockage des échantillons

Il n'existe pas de données sur la stabilité du DBF et de la DBD dans les antimousses. Actuellement, ceux-ci sont conservés à la température ambiante jusqu'au moment de l'analyse. Pour éviter toute contamination, on utilisera pour le stockage des antimousses des bouteilles de verre à capuchon garni d'aluminium ou de téflon.

Section 2

Appareillage et réactifs

2.1 Appareillage

Voici une liste de l'appareillage requis pour effectuer le dosage. À noter que toute la verrerie doit être lavée et séchée selon la méthode utilisée pour l'analyse des composés organiques à l'état de traces.

a) Fioles jaugées de 10, 50 et 100 mL.

b) Têtes de colonne de distillation à la vapeur (voir construction et dimensions à la figure 1).

c) Ballons à fond rond de 500 et 250 mL.

d) Tubes à centrifuger gradués de 15 mL avec bouchon de verre conique standard ou capuchon à vis garni de téflon.

e) Colonnes de chromatographie de 400 mm sur 10 mm (ø int.) avec robinets en téflon.

f) Colonnes de Snyder à trois sections d'environ 30 cm de longueur.

g) Chauffe-ballons thermostatiques.

h) Étuve pour le séchage de la verrerie.

i) Four pour l'activation de l'alumine à 130 °C.

j) Système de CG-SM de bonne sensibilité utilisé en mode de détection d'ions spécifiques. Par exemple, on a utilisé un CG HP5880A relié à un détecteur SM HP5970B et un système de traitement de données, mais tout système de sensibilité égale ou supérieure peut convenir.

k) Colonne capillaire en silice fondue de 30 m sur 0,25 mm (ø int.) revêtue d'une pellicule de 0,25 µm contenant 5 % de diphénylpolysiloxane, 94 % de diméthylpolysiloxane et 1 % de vinylpolysiloxane.

l) Seringues Hamilton de 10, 50, 100, 250 et 500 L.

2.2 Réactifs

Voici une liste des réactifs requis pour effectuer le dosage. À noter que tous les solvants organiques doivent être de qualité distillée dans du verre et qu'on doit prévoir des blancs pour l'analyse des résidus.

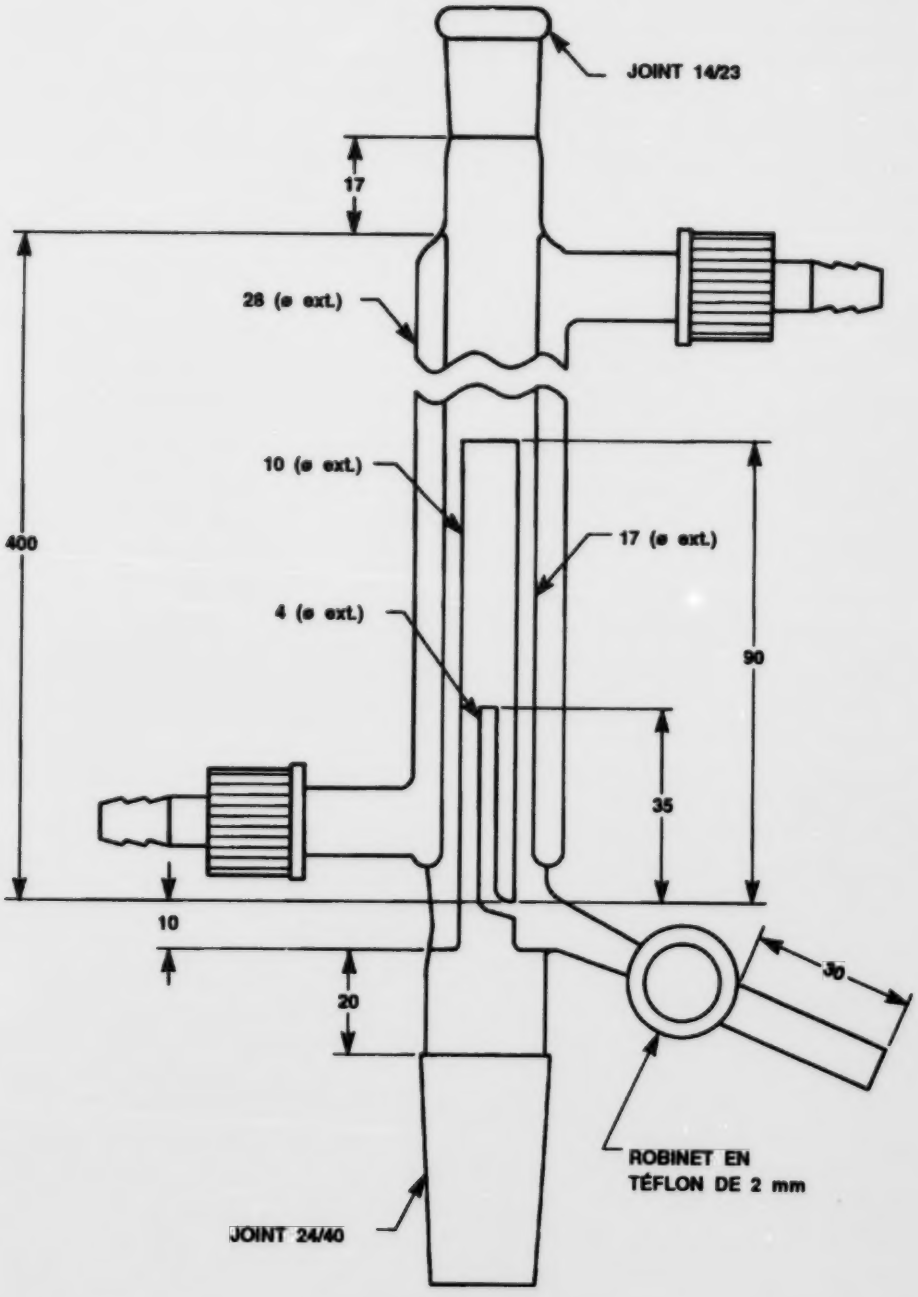
a) Isooctane.

b) Éther de pétrole (point d'ébullition de 30 à 60 °C).

c) Dichlorométhane.

d) Alumine, basique, 100 à 200 mesh, activité Brockman I, activée à 130 °C pendant une nuit et conservée dans un flacon hermétiquement fermé, placé dans un dessiccateur jusqu'au moment de l'utilisation. L'adsorbant doit être réactivé toutes les deux semaines.

e) Sulfate de sodium anhydre maintenu toute une nuit à 600 °C.



NOTE : TOUTES LES DIMENSIONS SONT EN MILLIMÈTRES

Figure 1 Tête de colonne de distillation à la vapeur

f) Eau de qualité réactif, c'est-à-dire dans laquelle on n'observe pas de produit susceptible de créer des interférences à la limite de détection des paramètres mesurés. Par exemple, on a préparé un échantillon en faisant passer de l'eau distillée dans une unité de purification à quatre cartouches.

g) Dibenzofurane de pureté minimale 99 %.

h) Dibenzo-*p*-dioxine de pureté minimale 98 %.

i) Dibenzofurane-d_8 et dibenzo-*p*-dioxine-d_8 de pureté 99,0 %*.

j) Hexaméthylbenzène de pureté 99 %.

k) Granules pour ébullition en alumine fondue ou billes de téflon.

---

* Lorsqu'on en dispose, on peut utiliser des analogues de DBF et de DBD marqués au ^{13}C au lieu d'analogues deutérés.

Section 3

Mode opératoire

3.1 Extraction

a) Bien agiter l'échantillon avant de prélever un sous-échantillon pour l'analyse*.

b) À 5,00 g d'antimousse, dans un ballon à fond rond de 500 mL, ajouter 50 µL d'un mélange d'analogues constituant l'étalon interne et contenant 5 ng/µL de DBF-d_8 et 5 ng/µL de DBD-d_8 dans de l'isooctane, ainsi que 200 mL d'eau de qualité réactif et des granules pour ébullition**.

c) Placer le ballon à fond rond dans un chauffe-ballon et installer le réfrigérant de distillation à la vapeur.

d) Verser 3 mL d'eau et 2 mL d'isooctane dans le réfrigérant.

e) Lorsque l'eau de refroidissement circule régulièrement dans le réfrigérant, régler le thermostat du chauffe-ballon pour amener la suspension à une ébullition vigoureuse mais sans bouillonnement brusque qui sera maintenue pendant 3 h.

f) L'extraction terminée, laisser le réfrigérant refroidir jusqu'à la température ambiante. Soutirer autant d'eau que possible avant de récupérer la fraction organique dans un tube à centrifuger de 15 mL.

g) Avec une pipette Pasteur, transférer la fraction organique dans un deuxième tube à centrifuger contenant une petite quantité de sulfate de sodium anhydre, en laissant l'eau dans le premier tube.

h) Rincer le réfrigérant et le premier tube avec deux fois 2 mL d'éther de pétrole et vider les liquides de rinçage dans le deuxième tube.

i) Réduire le volume de l'extrait combiné à 2 mL en évaporant au bain-marie à 45 °C sous un léger courant d'azote.

3.2 Purification

a) Fermer une colonne de verre de 400 mm sur 10 mm (ø int.) avec de la laine de verre. Ajouter 1 cm de sulfate de sodium anhydre granulaire au bas de la colonne.

b) Remplir la colonne avec 5,00 g d'alumine basique activée et 1 cm de sulfate de sodium anhydre à la partie supérieure.

c) Éluer la colonne avec 20 mL d'éther de pétrole et jeter cette fraction.

---

* Certains antimousses étant fournis sous forme de suspension, on devrait homogénéiser l'échantillon par agitation afin d'être sûr de prélever un sous-échantillon représentatif pour l'analyse. Un échantillon plus gros, par exemple de 5 g plutôt que de 1 g, aide également à prévenir tout problème de manque d'homogénéité.

** Pour obtenir une récupération totale du DBF et de la DBD par distillation à la vapeur, il faut ajouter environ 100 granules pour ébullition (de 0,6 à 0,7 g) au mélange d'eau et d'échantillon afin d'avoir une ébullition vigoureuse mais sans bouillonnement brusque.

d) Transvaser quantitativement l'extrait final dans la colonne, éluer avec 50 mL d'éther de pétrole et jeter aussi cette fraction.

e) Continuer l'élution avec 50 mL d'une solution à 8 % (*V/V*) de dichlorométhane dans de l'éther de pétrole et récupérer cette fraction dans un ballon à fond rond de 250 mL, car elle contient la totalité du DBF et de la DBD, naturels et deutérés.

f) Évaporer le solvant jusqu'à ce qu'il ne reste que 5 mL environ au moyen d'une colonne de Snyder à trois sections et d'un chauffe-ballon*.

g) Après refroidissement, verser l'extrait dans un tube à centrifuger de 15 mL et ajouter 1 mL d'isooctane. Rincer la colonne de Snyder et le ballon avec deux fois 2 mL d'éther de pétrole et verser les liquides de rinçage dans le tube.

h) Réduire le volume à un peu moins de 0,5 mL en évaporant au bain-marie à 45 °C sous un léger courant d'azote.

i) Après refroidissement, ajouter 10 µL d'une solution à 25 ng/µL d'hexaméthylbenzène dans de l'isooctane, qui sert d'étalon pour la récupération, et ajuster le volume à 0,5 mL avant l'analyse par CG-SM.

3.3 Analyse par chromatographie gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM)

a) Voici un exemple des conditions pour l'analyse du DBF et de la DBD par CG-SM :

Instrument	CG HP5880A, SM HP5970B et système de traitement de données
Colonne	30 m sur 0,25 mm, avec une pellicule de 0,25 µm d'épaisseur
Gaz vecteur	Hélium sous une pression de 69 kPa (10 lb/po^2) à l'entrée de la colonne, à une vitesse linéaire de 32 cm/s
Injection	2 µL sans diviseur de flux, avec un temps de réponse de 0,75 min
Température de l'injecteur	250 °C
Programme du four	70 °C pendant 0,75 min, puis montée programmée à 140 °C à raison de 30 °C/min, puis à 180 °C à raison de 2 °C/min. À la fin, maintenir la colonne à 280 °C pendant 15 min**.
Ionisation	Bombardement électronique (70 eV)
Température de la source	200 °C
Temps de rétention	100 ms

---

* On peut utiliser d'autres techniques d'évaporation, mais l'analyste devra alors démontrer que les pertes de DBF, de DBD et de leurs analogues sont négligeables dans les conditions utilisées.

** Lors de l'analyse par CG-SM, pour éviter toute interférence des produits à point d'ébullition élevé extraits simultanément, il est nécessaire de maintenir la colonne capillaire à 280 °C pendant 15 min avant d'injecter l'extrait suivant d'antimousse.

Force électromotrice	200 V au-dessus de la valeur d'autosyntonisation
Ions détectés	*m/z* 147[a] pour l'hexaméthylbenzène *m/z* 168[a] et 139[b] pour le DBF *m/z* 176[a] pour le DBF-d_8 *m/z* 184[a] et 155 [b] pour la DBD *m/z* 192[a] pour la DBD-d_8
où :	[a] = ion de mesure [b] = ion de confirmation

b) Préparer une série d'étalons dans de l'isooctane couvrant la plage prévue de concentrations de DBF et de DBD dans les extraits d'échantillons. Chaque solution doit aussi contenir du DBF-d_8, de la DBD-d_8 et de l'hexaméthylbenzène à une concentration du 500 pg/µL.

c) Pour maximiser la sensibilité, diviser les ions en trois groupes ou fenêtres de temps de rétention. Détecter *m/z* 147 (hexaméthylbenzène) dans le groupe 1, *m/z* 139 et 168 (DBF) et 176 (DBF-d_8) dans le groupe 2, et *m/z* 155 et 184 (DBD) et 192 (DBD-d_8) dans le groupe 3.

d) Injecter 2 µL d'étalon et l'analyser par CG-SM en mode de détection d'ions spécifiques aux masses indiquées au point *c*). On trouvera à la figure 2 un chromatogramme typique. L'ordre d'élution est le suivant : hexaméthylbenzène, DBF-d_8, DBF, DBD-d_8 et DBD.

e) Analyser les échantillons de la même façon que les étalons*.

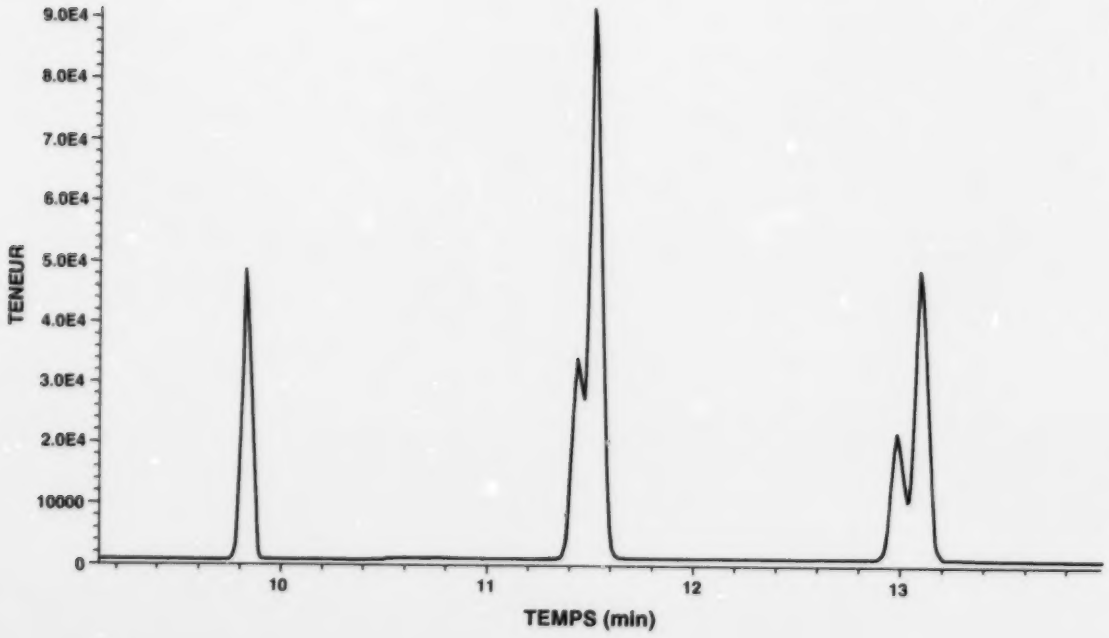


Figure 2 Chromatogramme typique

---

* S'il y a des interférences excessives, on recommande d'utiliser un système CG-SM ayant une résolution de 5 000 ou plus. Dans ce cas, les ions détectés sont : 147, 1174 pour l'hexaméthylbenzène, 168, 0575 et 139, 0548 pour le DBF, 176,1077 pour le DBF-d_8, 184,0524 et 155, 0497 pour la DBD et 192,1026 pour la DBD-d_8.

3.4 Confirmation de l'identité

a) Intégrer les chromatogrammes reconstruits pour les ions de mesure (*m/z* 168 pour le DBF et *m/z* 184 pour la DBD) et les ions de confirmation (*m/z* 139 pour le DBF et *m/z* 155 pour la DBD) dans l'échantillon. Si le rapport des aires des pics de l'ion de mesure et de l'ion de confirmation, au temps de rétention prévu, correspond à 20 % près à celui d'un étalon certifié, la présence du composé est confirmée.

b) Pour confirmer des concentrations de 10 ng/g ou moins de DBF ou de DBD dans des échantillons, poursuivre l'évaporation de l'extrait final jusqu'à 100 µL ou moins.

Section 4

Calculs

a) À partir des chromatogrammes intégrés des analyses d'étalonnage, calculer les coefficients de réponse (K) du DBF et de la DBD naturels par rapport aux ions correspondants perdeutérés qui constituent les étalons internes, au moyen de la formule suivante :

$$K = (A_E / A_i)\,(c_i / c_E)$$

où :

A_i = aire du pic de l'ion de mesure pour le composé naturel à doser (*m/z* 168 pour le DBF et *m/z* 184 pour la DBD)

A_E = aire du pic de l'ion de mesure pour l'étalon interne correspondant (*m/z* 176 pour le DBF-d_8 et *m/z* 192 pour la DBD-d_8)

c_i = concentration du composé naturel à doser, en pg/µL

c_E = concentration de l'étalon interne correspondant, en pg/µL

b) Si les coefficients calculés pour le DBF ou la DBD sont constants (écart-type relatif <10 %) dans toute la plage de mesure, on peut supposer que le coefficient de réponse est invariable et on peut utiliser le coefficient moyen. On peut aussi tracer une courbe d'étalonnage des coefficients de réponse (A_E / A_i en fonction de K).

c) Calculer la concentration de DBF ou de DBD naturels dans l'échantillon (c_x), en ng/g, au moyen de la formule suivante :

$$c_x = K\,(A_i / A_E)\,(m_E / m_x)$$

où :

K = coefficient de réponse du composé naturel par rapport à l'étalon interne correspondant

A_i = aire du pic de l'ion de mesure pour le composé naturel dans l'échantillon (*m/z* 168 pour le DBF et *m/z* 184 pour la DBD)

A_E = aire du pic de l'ion de mesure pour l'étalon interne correspondant dans l'échantillon (*m/z* 176 pour le DBF-d_8 et *m/z* 192 pour la DBD-d_8)

m_E = masse de l'étalon interne correspondant ajouté à l'échantillon avant l'extraction, en ng

m_x = masse de l'échantillon d'antimousse, en g

d) Calculer le pourcentage de récupération des étalons internes perdeutérés (r_E) présents dans l'extrait d'échantillon au moyen de la formule suivante :

$$r_E = (A_E / A_r)_x\ (A_r / A_E)_E\ (100)$$

où :

A_r = aire du pic de l'ion de mesure (*m/z* 147) pour l'étalon de récupération (hexaméthylbenzène)

A_E = aire du pic de l'ion de mesure pour l'étalon interne (*m/z* 176 pour le DBF-d_8 et *m/z* 192 pour la DBD-d_8)

$(\ )_x$ = mesure faite avec l'échantillon

$(\ )_E$ = mesure faite avec l'étalon

Section 5

Contrôle de la qualité et rendement de la méthode

5.1 Contrôle de la qualité

a) La plage acceptable pour la récupération des analogues se situe entre 50 et 120 % pour une concentration de 50 ng/g. Si le pourcentage de récupération des analogues est à l'extérieur de cette plage, on devrait refaire l'analyse de l'échantillon ou réexaminer entièrement la technique d'analyse utilisée.

b) On devrait traiter des blancs régulièrement de façon à pouvoir tenir compte de la contamination de fond.

5.2 Rendement de la méthode

a) Avec un échantillon de 5 g et un volume final de 0,5 mL, la limite de détection de la méthode pour le DBF et la DBD est de 1 ng/g. Cette valeur a été obtenue au moyen de dosages répétés d'échantillons dopés d'antimousses dans un laboratoire unique. La limite de détection atteinte lors d'une analyse donnée dépend de la sensibilité des instruments et des effets de matrice de l'échantillon.

b) On a évalué la linéarité de la récupération avec des antimousses dopés et on a démontré qu'elle s'appliquait dans la plage de concentrations allant de 1 à 100 ng/g.

c) Dans un laboratoire unique, six dosages répétés du DBF et de la DBD dans un échantillon d'antimousse dopé à 10 ng/g ont donné des taux de récupération moyens et des coefficients de variation de 103 et 8,9 % respectivement pour le DBF, et de 106 et 5,9 % respectivement pour la DBD.

Bibliographie

Kuehl, D.W. et R.C. Dougherty, *Environ. Sci. Technol. 14*(4), 447-449 (1980).

Voss, R.H., C.E. Luthe, B.I. Fleming, R.M. Berry et L.H. Allen, «Some New Insights into the Origins of Dioxins Formed During Chemical Pulp Bleaching», *Pulp Pap. Can. 89*(12), 151-162 (1988).